مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۲، سال ۱۳۹۵

ارزیابی ژنتیکی مقاومت به ویروس موزائیک ایرانی ذرت از طریق تجزیه میانگین نسل‌ها

Evaluation of the Genetic of Resistance to *Maize Iranian mosaic virus* (MIMV) by Generations Mean Analysis

افشار استخر[۱]، بهرام حیدری[۲]، علی دادخدائی[۳] و کرامت الله ایزدپناه[۴]

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۴- استاد، مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۶

چکیده

استخر، ا.، حیدری، ب.، دادخدائی، ع. و ایزدپناه، ک. ۱۳۹۵. ارزیابی ژنتیکی مقاومت به ویروس موزائیک ایرانی ذرت از طریق تجزیه میانگین نسل‌ها.
مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۲۶۹- ۲۴۵.

این تحقیق در سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۳در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس ودانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز اجرا شد. تلاقی بین اینبرد لاین‌های ذرت MO17 و K1263/1 به ترتیب به عنوان حساس و مقاوم به ویروس موزائیک ایرانی ذرت انجام شد. پس از تولید جمعیت‌های F_1 و F_2، از طریق تلاقی برگشتی نسل اول با هر دو والد، بذر نسل‌های $BC_1(F_1\times MO17)$ و $BC_2(F_1\times K1263/1)$ به دست آمد. نسل‌های $F_3(F_{2:3})$ و $BS_1(BC_1S_1)$ و $BS_2(BC_2S_1)$ از خودگشنی بوته‌های نسل‌های F_2 و BC_1 و BC_2 تولید شد. ارزیابی نسل‌های مختلف به مدت دو سال در گلخانه و مزرعه با آلوده سازی بوته‌ها توسط زنجرک انجام شد. صفات مرتبط با بیماری شامل شدت علائم بیماری، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری و جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر در آزمون الیزا (ELISA) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که نسل‌های والدینی MO17 و K1263/1 به ترتیب بیشترین و کمترین میزان این صفات را دارا بودند و بنابراین حساس‌ترین و مقاوم‌ترین نسل‌ها بودند. نسل‌های F_1 و BC_2 واکنشی شبیه به والد مقاوم نشان دادند. نتایج تجزیه میانگین نسل‌ها و آزمون‌های مقیاس نشان داد که مدل ۳ پارامتری شامل میانگین (m)، اثر افزایشی [d] و اثر غالبیت [h] بهترین برازش را در هر دو محیط داشت. در مدل ژنتیکی، میانگین، اثر افزایشی و اثر غالبیت صفات مختلف معنی‌دار بود. آثار اپیستازی در کنترل صفات معنی‌دار نبود که نشان دهنده عدم وجود اثر متقابل ژن‌ها در توارث این صفات در جمعیت در حال تفرق حاصل از این تلاقی بود. درجه غالبیت نزدیک به یک تایید کننده غالبیت کامل یا غالبیت نسبی ژن‌ها در کنترل صفات بود. متوسط توارث‌پذیری عمومی برای صفات مورد بررسی بیش از ۹۰ درصد بود. نتایج این تحقیق نشان داد با استفاده از روش‌های گزینشی مناسب و به کارگیری اثرهای افزایشی و غالبیت ژن‌های مقاومت، تولید لاین‌های مقاوم به ویروس موزائیک ایرانی ذرت امکان‌پذیر است.

واژه‌های کلیدی: ذرت، وراثت‌پذیری، موزائیک ایرانی ذرت، مقاومت.

نویسنده مسئول: bheidari@shirazu.ac.ir تلفن: ۰۹۱۷۷۰۷۰۸۸۹

مقدمه

تاکنون ویژگی‌های بیش از ۷۰۰ رابدوویروس گیاهی توصیف شده است. بسته به تکثیر ویریون‌ها درون هسته و یا سیتوپلاسم، رابدوویروس‌ها به ترتیب به دو جنس *Nucleorhabdovirus* و *Cytorhabdovirus* تقسیم شده‌اند. رابدوویروس‌ها (خانواده *Rhabdoviridae*) در انسان، حیوان و گیاه آلودگی ایجاد می‌کنند. همه رابدوویروس‌های گیاهی درون بدن حشرات تکثیر و منتقل می‌شوند و بنابراین هم میزبان گیاهی و هم جانوری دارند. ناقلین اصلی رابدوویروس‌ها شته‌ها، زنجرک‌های برگی (Leafhoppers) و زنجرک‌های بوته‌ای (Planthoppers) از راسته Hemiptera هستند (Jackson *et al*., 1987). در ایران در سال ۱۳۵۸ علائم مشابه ویروس موزائیک ذرت در مزارع ذرت در اطراف شیراز مشاهده شد و از گیاهان بیمار یک رابدوویروس جداسازی شد که بعدها ویروس موزائیک ایرانی ذرت *Maize Iranian mosaic virus* (MIMV) نام گرفت (Izadpanah and Parvin, 1979). اگر چه ابتدا زنجرک *Unkanodes tanasijevici* به عنوان ناقل این ویروس گزارش شد ولی ناقل اصلی آن *Laodelphax striatellus* است. دامنه میزبانی MIMV نیز محدود به گرامینه است. این بیماری در برخی سال‌ها شایع شده و میزان آلودگی آن گاهی به ۸۰٪ نیز می‌رسد (Izadpanah, 2004). بررسی‌های سرولوژیکی نشان داده است که این ویروس از سایر رابدوویروس‌های غلات قابل تمایز است (Izadpanah, 1989). این ویروس تنها با زنجرک قابل انتقال است و در شرایط سخت زمستان نیز می‌تواند بقای خود را در بدن زنجرک و نیز محصولات زمستانه مانند گندم و علف‌های هرز خانواده گندمیان مانند چچم، دم‌روباهی و سایر گیاهان حفظ کند (Izadpanah *et al*., 1993). براساس ترادف نوکلئوتیدی و وجود پیکره‌های ویروس در غشاء هسته، MIMV یک ویروس جدید از خانواده *Rhabdoviridae* و جنس *Nucleorhabdovirus* است که بومی ایران است (Massah *et al*., 2008؛ Ammar *et al*., 2005؛ Massah *et al*., 2004a,b؛ Ammar *et al*., 1987). کاهش رشد از علائم بارز بیماری است. در صورت آلودگی زود هنگام، گیاهان آلوده بلال‌های ضعیف با تعداد دانه کم تولید می‌کنند. آلودگی به میزان ۲۰٪ در سطح مزرعه موجب ۱۵٪ کاهش عملکرد در ذرت می‌شود (Ahmadi *et al*., 1986). ویروس موزائیک ایرانی ذرت علاوه بر ذرت در سایر گیاهان مثل گندم،جو، برنج و چندین گیاه دیگر از خانواده گرامینه نیز خسارت ایجاد می‌کند (Izadpanah *et al*., 1983).

به دلیل نقش زنجرک *L. striatellus* به عنوان ناقل دو ویروس کوتولگی زبر و

موزائیک ایرانی ذرت تحقیقات مناسبی در زمینه کنترل این زنجرک انجام شده است. در بررسی چندین رقم در تاریخ کاشت‌های مختلف نشان داده شده که با کشت در تاریخ ۲۰ خرداد در مقایسه با کشت در تاریخ سوم خرداد میزان آلودگی از ۱۴درصد به ۴/۲۵ درصد کاهش می‌یابد (Jalali *et al*., 2007). در مطالعه دیگربا تاخیر در کشت از اردیبهشت به اواخر خرداد میزان آلودگی از ۵۳/۴درصد به ۲/۵ درصد کاهش یافت (Salehi *et al*., 2004). نتایج تحقیقات انجام شده در استان فارس نشان داده است که ارقام و هیبریدهای مختلف واکنش‌های متفاوتی نسبت به این ویروس‌ها نشان می‌دهند و تاریخ کاشت‌های زودتر در مناطق معتدله استان بیشتراز تاریخ کشت‌های دیرتر تحت تاثیر قرار می‌گیرند.این امر بیشتر به علت اثر دما در سرعت رشد ذرت در تاریخ‌های دیر است و به این طریق اثر تاخیر در کاشت در کاهش آلودگی به ویروس‌ها در استان فارس نیز تایید شده است (Salehi *et al*., 2004؛ Estakhr and Choukan, 2011؛ Estakhr, 2004). در دهه اخیر با مساعد بودن شرایط محیطی جهت فعالیت زنجرک ناقل بیماری ویروسی کوتولگی زبر و موزائیک ایرانی، عملکرد مزارعی که زودهنگام در اردیبهشت ماه و یا اوایل خرداد کشت شده‌اند به شدت کاهش یافته است. اگرچه تاخیر در کاشت تا حدود زیادی از شدت بیماری می‌کاهد، اما بهترین روش مدیریت برای کنترل بیماری‌ها تولید ارقام مقاوم است. برای رسیدن به این هدف نیاز است لاین‌های مقاوم به ویروس شناسائی و از اطلاعات نحوه عمل ژن‌های کنترل کننده مقاومت و توارث پذیری مقاومت در تولید ارقام مقاوم استفاده شود.

برآورد اجزای افزایشی، غالبیت و نیز تعیین اپیستازی برای تعیین روش اصلاحی و تشخیص لزوم تولید دورگ یا لاین خالص و نیز پیش‌بینی احتمال دستیابی به لاین‌هایی که بهتر از لاین‌های اولیه هستند حائز اهمیت است (Jinks and Pooni, 1979). وجود غالبیت و اپیستازی تکمیلی کارائی انتخاب را در نسل‌های اولیه کاهش می‌دهد و هر چه سهم اثر غالبیت در توارث صفت بیشتر باشد توارث صفت پیچیده‌تراست. انتخاب بهترین روش اصلاحی و موفقیت آن به میزان اطلاع از کنترل ژنتیکی صفت مورد نظر و نحوه توارث آن بستگی دارد (Dixit, 1998). لاین‌های مقاوم به برخی از ویروس‌های ذرت شناسایی شده‌اند و اطلاعات مناسبی از این لاین‌ها وجود دارد (Lubberstedt *et al*., 1999؛ Simcox *et al*., 1995؛ McMullen *et al*., 1994؛ Louie and Anderson, 1993). مطالعات مختلف نشان داد که حدود ۱ تا ۵ ژن مقاومت ویروس‌هایی مثل *Sugarcane mosaic virus* (SCMV)، *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) و

Wheat streak mosaic virus (WSMV) را کنترل می‌کنند. بررسی‌ها نشان داده که یک ژن بارز (*Mdm1*) روی کروموزوم شماره ۶ ذرت مقاومت به MDMV را کنترل می‌کند (Simcox *et al*., 1995). سه ژن مقاومت به WSMV نیز شناسایی شده است (*Wsm3*، *Wsm2* و *Wsm1*) که روی کروموزوم‌های شماره ۳ و ۶ ذرت قرار دارند (McMullen *et al*., 1994). یک ژن مقاومت به ویروس موزائیک ذرت (MMV) به نام *mv1* روی کروموزوم ۳ شناسایی شده است (Ming *et al*., 1997). در مورد مقاومت به MIMV مطالعات زیادی انجام نشده است. اخیرا برای اولین بار لاین مقاوم K1263/1 به این ویروس در بررسی لاین‌های ایرانی ذرت تشخیص داده شده است (نتایج منتشر نشده). در مورد نحوه توارث و عمل ژن مقاومت به MIMV گزارشی وجود ندارد و طبیعتاً مکانیسم مقاومت ممکن است بر اساس لاین مقاوم، متفاوت باشد. در تولید ارقام مقاوم به ویروس MIMV ضروری است تا به طور کامل نحوه توارث این صفت و ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت به‌آن بررسی شوند. اثر ژنی افزایشی، غالبیت و اپیستازی برای تعدادی از بیماری‌های ویروسی بررسی شده است که در این مطالعات از انواع متنوعی از هیبریدها و جوامع ذرت و تعداد زیادی از مدل‌های ژنتیکی استفاده شده است. روش تجزیه میانگین نسل‌ها بر اساس مطالعه میانگین و واریانس نسل‌های در حال تفرق حاصل از تلاقی لاین‌های مقاوم و حساس یکی از بهترین روش‌های مطالعه ژنتیکی است که برای تعیین نوع کنترل ژنتیکی صفات به کار می‌رود (Mather and Jinks, 1982). هدف از این مطالعه برآورد پارامترهای ژنتیکی مرتبط با مقاومت به ویروس موزائیک ایرانی ذرت با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها بود. تعیین اثر غالبیت، افزایشی و اپیستازی و میزان توارث پذیری عمومی و خصوصی مقاومت به IMMV و تعداد ژن‌های کنترل کننده مقاومت در انتخاب بهترین شیوه اصلاحی برای افزایش مقاومت به ویروس و تولید لاین‌های مقاوم موثر خواهد بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق آزمایش‌های مزرعه‌ای در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس واقع در ۳۰ کیلومتری شمال شرقی شیراز و آزمایش‌های گلخانه‌ای در گلخانه مرکزتحقیقات ویروس‌شناسی گیاهی واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز اجرا شد. از اینبرد لاین‌های ذرت MO17 و K1263/1 که به ترتیب حساس و مقاوم به ویروس موزائیک ایرانی ذرت هستند (Estakhr *et al*., 2015) به عنوان والدین تلاقی و از رقم KSC704 به عنوان شاهد حساس در این مطالعه استفاده شد. پس از تولید جمعیت F_1 از تلاقی این دو لاین، جمعیت F_2 حاصل از آن‌ها تولید شد. هم‌چنین تلاقی برگشتی نسل اول با هر دو والد اینبرد

والــدینی انجــام شــد و بــذر نســل‌هــای $BC_1(F_1 \times MO17)$ و $BC_2(F_1 \times K1263/1)$ بــه دســت آمــد. نســل‌هــای $F_3(F2:3)$ و $BS1(BC_1S1)$ و $BS2(BC_2S1)$ از خودگشنی بوته‌های نسل‌های F_2، BC_1 و BC_2 نیز تولید شدند.

تهیه ناقل آلوده به ویروس برای ایجاد آلودگی مصنوعی

ناقل ویروس موزائیک ایرانی ذرت عمدتاً زنجرک *L. striatellus* است که در این تحقیق نیز برای انتقال عامل بیماری از آن استفاده شد. برای تهیه کلنی سالم و خالص، زنجرک‌ها از طبیعت جمع‌آوری و به مدت طولانی روی بوته‌های سالم و بدون بیماری جو رقم کارون × کویر نگهداری و تکثیر شدند زیرا این زنجرک روی گیاه جو به خوبی تغذیه کرده و تکثیر می‌یابد. پوره‌های نسل اول سریعاً به گلدانی جدید حاوی بوته‌های جو با سرپوش مناسب (شیشه و توری) منتقل شدند. این کار به مدت طولانی و چندین بار پیاپی انجام شد. جمعیت زنجرک روی گیاهان مختلف (گندم، جو و ذرت) از نظر ایجاد علائم آزمون شدند. کلنی‌هایی که روی هیچ یک از گیاهان علائم تولید نکردند به عنوان کلنی سالم انتخاب شدند. سالم بودن این زنجرک‌ها با آزمون الیزا (Converse and Martin, 1990) نیز تایید شد. زنجرک‌های سالم روی گیاهان جو در گلدان‌هایی با سرپوش مناسب تکثیر شدند. برای تکثیر مناسب، گلخانه مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی در شرایط نور- تاریکی ۱۰/۱۴ ساعت و شرایط دمایی بین ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

برای تهیه کلنی زنجرک آلوده به MIMV (منبع ویروس) و انتقال ویروس به بوته‌های ذرت، یک بوته ذرت آلوده با علائم کاملاً مشخص ویروس مذکور (خطوط کلروتیک) از مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس واقع در زرقان، برداشت و به گلخانه منتقل شد. علاوه بر وجود علائم در برگ‌ها، آلودگی این بوته به روش سرولوژیکی الیزا (ELISA) نیز تایید شد. زنجرک‌های سالم عاری از ویروس به این بوته آلوده ذرت زیر سرپوش مناسب منتقل شدند و به مدت ۱۵ روز تغذیه (تغذیه گیرش) و تکثیر شدند. زنجرک‌های آلوده نیز مثل زنجرک‌های سالم روی گیاهان جو رقم کارون × کویر در زیر سرپوش و دمای مناسب در گلخانه تکثیر یافتند و از آن‌ها برای آلوده‌سازی بوته‌های نسل‌های مختلف ذرت در مزرعه و گلخانه استفاده شد. برای اطمینان بیشتر از انتقال ویروس توسط زنجرک‌ها، تعدادی از آن‌ها روی رقم حساس ذرت (رقم KSC704 و لاین MO17) انتقال داده شدند که پس از گذشت یک ماه علائم کلروتیک نواری به طور کاملاً واضح روی ارقام حساس قابل رویت بود. تایید آلودگی یا عدم آلودگی در بوته‌های ذرت مایه‌زنی شده با ناقل آلوده با آزمون الیزا اثبات شد.

آزمون سرولوژیکی الیزا به روش غیر مستقیم (Clarck and Bar-Joseph, 1984؛ Converse and Martin, 1990) بـا اسـتفاده از گاماگلوبولین تهیه شده علیه ویـروس در مرکـز تحقیقـات ویـروس شناسـی گیـاهی (Izadpanah *et al.*, 1989) بـا رقـت یـک بـه هزار انجام شـد. جـذب نـور چاهـک‌هـا حـدود ۲۰ تا ۳۰ دقیقه بعد از اضافه کردن رنگ (رنـگ ۴- نیتروفنیل فسفات ترکیب شده بـا بـافر رنـگ حاوی دی اتانول آمین) بـه چاهـک‌هـا در طـول موج ۴۰۵ نانومتر با دسـتگاه خواننـده الیـزا ثبـت شد. در صورتی که جذب نـور نمونـه، بیشـتر از میانگین کنترل منفی‌ها به علاوه سه برابر انحراف استاندارد آن‌هـا بـود، نمونـه الیـزا مثبـت در نظـر گرفته شد (Naidu and Hughes, 2003).

آزمایش‌های گلخانه‌ای

در ارزیـابی گلخانـه‌ای و مزرعـه‌ای در سـال ۱۳۹۲ بـذر نسـل‌هـای والـدین P_1(MO17)، P_2(K1263/1)، F_1، F_2، BC_1 (تلاقی برگشتی با والد حساس P_1) و BC_2 (تلاقی برگشتی بـا والـد مقـاوم P_2) و در ارزیـابی گلخانـه‌ای سـال ۱۳۹۳ همین نسل‌ها به همراه نسل‌هـای F_3، BS_1 و BS_2 مـورد آزمـایش قـرار گرفتنـد. در ارزیـابی گلخانه‌ای از والدین حسـاس (MO17) و مقـاوم (K1263/1) و نسـل F_1 و تلاقـی‌هـای برگشـتی (Back cross)، هر کـدام تعـداد ۲۰ گلـدان (بـا ابعاد ۱۰×۱۵سانتی‌متر) حاوی خاک اسـتریل (بـه نسبت یک قسمت خـاک مزرعـه، یـک قسـمت کـود بـرگ و نـیم قسـمت ماسـه‌ی رودخانـه) و ۱۷۶ گلـدان از F_2 حاصـل از خودگشـنی F_1 تلاقی ذکر شده، با سرپوش مناسب توری‌دار در گلخانه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو تکرارکاشـته شـدند. تعـداد بوتـه‌هـای نسل‌های مختلف در گلخانه در دو سال متفـاوت بود (به جـدول شـماره ۲ مراجعـه شـود). در هـر گلدان ابتدا ۲ تا ۳ بذر کاشته شد و بلافاصله پس از سبز شدن به یک بوته در گلدان تنک شـدند. برای مایه‌زنی بوته‌ها در مرحله یک تا دو برگی، سه تا پنج زنجرک (حاوی ترکیبی از پوره و بالغ نر و ماده) از کلنی آلوده بـه ویـروس موزائیـک ایرانی ذرت روی هر بوته قرار داده شدند. بعد از پنج روز تغذیه زنجرک‌ها، سم‌پاشـی بوتـه‌هـا بـا سم کنفیدور انجام شد و گیاهان مایـه‌زنـی شـده برای ظهور علائم، ارزیابی و نمونه‌برداری بـرای الیزا در گلخانه نگهداری شدند. تعدادی گلـدان از رقم حساس KSC704 و لاین حساس MO17 نیز به عنوان شاهدکاشته شدند که برخی از آن‌ها با مایه‌زنی به عنوان کنترل مثبـت و برخـی بـدون مایه‌زنی (بوته سالم) بـه عنـوان کنتـرل منفـی در آزمون الیزا استفاده شدند.

برای بررسی بروز علائم، بازدید روزانه انجام شد و علائم بیماری با توجه به شـاهد حسـاس و آلوده به ویروس ثبت شد. شدت علائم برگ‌هـا (درصد پوشـش نوارهـای کلروتیـک در بـرگ) بین صفر تا ۱۰۰ درصد متغیر بود. این علائـم بـه صـورت هفتگـی و در ۳، ۴، ۵ و ۷ هفتـه بعـد از مایه‌زنی یادداشت‌برداری شدند. در نهایـت و در

آخرین یادداشت‌برداری (۴۹ روز بعد از مایه‌زنی) شدت آلودگی بر اساس درصدی از کل برگ‌های دارای نوارهای کلروتیک در هر بوته یادداشت شد. سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (Area under disease progress curve: AUDPC) برای درصد پوشش علائم برگ‌های هر بوته در مراحل مختلف نیز بر اساس فرمول زیر محاسبه شد و مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت (Dintinger *et al*., 2005 ؛Sibyia, 2009؛ Campbell and Madden, 1990؛ Fry, 1977).

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1}\left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2}\right)(t_{i+1} - t_i)$$

در این فرمول، y_i برابر است با شدت علائم (درصد پوشش برگ از علائم) در زمان t_i، y_{i+1} شدت علائم در زمان t_{i+1}، t_i زمان اندازه‌گیری آلودگی مشاهده iام (روز بعد از مایه‌زنی)، t_{i+1} زمان اندازه‌گیری مشاهده i+1ام (روز بعد از مایه‌زنی) و n برابر است با تعداد کل دفعات یادداشت‌برداری از میزان آلودگی(در ارزیابی گلخانه‌ای n برابر بودبا ۴). استفاده از پارامتر AUDPC در مطالعه اپیدمیولوژی بیماری‌ها متداول است و در اصلاح مقاومت به بیماری‌ها نیز بسیار گزارش شده است (Simko and Piepho, 2012؛ Haynes and Weingartner, 2004؛ Jeger and Viljanen-Rollinson, 2001؛ Jones *et al*., 2004).

آلودگی بوته‌های هر نسل به ویروس با آزمون الیزا نیز بررسی شد. برای انجام آزمون الیزا نمونه‌های برگی از برگ چهارم هر بوته حدود ۲۸ روز بعد از مایه‌زنی برداشته شد. در این زمان بوته‌های رقم حساس علائم کاملا آشکار MIMV را نشان دادند. این آزمون برای تمام بوته‌های هر نسل انجام شد.در این آزمون از بوته‌های آلوده و سالم رقمKSC704 و لاین MO17 که نسبت به MIMV حساس بودند به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شد. در صورتی که جذب نور نمونه، بیشتر از میانگین کنترل منفی‌ها به علاوه سه برابر انحراف استاندارد آن‌ها بود، نمونه الیزا مثبت در نظر گرفته شد (Naidu and Hughes, 2003). هم‌چنین میانگین جذب نور نمونه‌ها در دو چاهک برای تشخیص تفاوت‌های معنی‌دار بین نسل‌های مختلف (۶ نسل) و هم‌چنین برای تجزیه ژنتیکی استفاده شد.

آزمایش مزرعه‌ای

در آزمایش مزرعه‌ای در سال ۱۳۹۲ والدین P_1(MO17)، P_2 (K1263/1) و نسل‌های F_1 (MO17×K1263/1)، BC_1 (F_1×MO17) و BC_2 (F_1×K1263/1) هر کدام در یک ردیف و نسل F_2 (F_1×F_1) در ده ردیف به طول حدود ۴ متر با فاصله ردیف ۷۵ سانتی‌متر و فاصله کپه روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر کاشته شدند. در فواصل بین آن‌ها به ازای هر پنج ردیف، دوردیف از لاین حساس MO17 نیز کاشته شد. در هر کپه ابتدا ۲ تا ۳ بذر کاشته شد و پس از

سبز شدن به یک بوته در کپه تنک شد. در اطراف مزرعه نیز چهار ردیف از لاین حساس MO17 کاشته شد. از زنجرک‌های تغذیه شده روی بوته‌های آلوده به MIMVدر گلخانه برای آلودگی بوته‌ها در مزرعه استفاده شد و بوته‌ها در مزرعه از ابتدا با توری‌های مناسب پوشانده شدند. به هر بوته پنجزنجرک (پوره و بالغ) آلوده منتقل شد و به مدت پنجروز زیر سرپوش‌ها نگهداری شدند تا تغذیه دهش انجام شود. در مرحله بعد سرپوش‌ها برداشته و سم‌پاشی با سم کنفیدور برای حذف زنجرک‌ها انجام شد. یادداشت‌برداری در مزرعه از تک بوته‌ها از ۲۸ روز بعد از مایه‌زنی و در فاصله‌ی زمانی هر ده روز انجام شد (در روزهای ۲۸، ۳۸، ۴۸ و ۵۸ روز بعد از مایه‌زنی). آخرین یادداشت‌برداری ۷۸ روز بعد از مایه‌زنی پایان گلدهی انجام شد. در مجموع پنج بار یادداشت‌برداری از شدت علائم (صفر تا ۱۰۰ درصد) در هر بوته انجام شد. سپس سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) با استفاده از داده‌های حاصل از پنج زمان یادداشت‌برداری محاسبه شد. صفات ارتفاع بوته و بلال (سانتی‌متر) و تاریخ رسیدن به مرحله کاکل‌دهی (روز) بوته‌ها در آزمایش مزرعه‌ای نیز ثبت شد.

تجزیه‌های آماری

صفات مرتبط با بیماری شامل شدت علائم در آخرین یادداشت‌برداری (Final symptoms)، میزان AUDPC و جذب نور در الیزا در نسل‌های والدینی، تلاقی برگشتی با هر دو والد، F_1، F_2،F_3 و نتاج حاصل از خودگشنی تلاقی برگشتی‌ها شامل BS_1 و BS_2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در بسیاری از تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی مقاومت به ویروس‌ها یا بیماری‌های دیگر و بررسی‌های توارثی مقاومت از این ۹ نسل به وفور استفاده شده است (DiRenzo *et al.*, 2002؛ Lehmensiek *et al.*, 2001؛ Pitrat and Lecoq, 1980). ابتدا تجزیه واریانس ساده صفات مذکور برای هر آزمایش به صورت جداگانه برای نسل‌های P_1، P_2، F_1، F_2، BC_1 و BC_2 انجام شد. سپس تجزیه مرکب دو آزمایش گلخانه‌ای و تجزیه مرکب سه آزمایش برای همین نسل‌ها و نسل‌های F_3، BS_1 و BS_2انجام شد. به دلیل تعداد متفاوت بوته‌ها در هر نسل تجزیه واریانس وزنی نیز انجام شد. با مشاهده تفاوت معنی‌دار بین نسل‌ها، تجزیه میانگین نسل‌ها برای صفات فوق انجام شد. از میانگین و واریانس نسل‌هایP_1، P_2، F_1، F_2، BC_1 و BC_2در برآورد اثر ژنتیکی و تجزیه میانگین نسل‌ها برای هر کدام از آزمایش‌ها به صورت جداگانه استفاده شد. برای تجزیه واریانس‌های ژنتیکی و محیطی تجزیه‌ها به صورت جداگانه برای هر آزمایش و هم چنین ترکیب دو آزمایش گلخانه‌ای و ترکیب هر سه آزمایش انجام شد.از میانگین داده‌های تمام بوته‌های هر نسل برای تجزیه و تحلیل میانگین نسل‌ها استفاده شد. از آن‌جا که تعداد بوته‌های

هر نسل متفاوت بود میانگین‌ها با روش رگرسیون حداقل مربعات وزنی (Weighted least square) و غیر وزنی (Unweighted least square) بر اساس مدل زیر تجزیه و تحلیل شدند (Kearsey and Poony, 1996؛ Mather and Jinks, 1982). از عکس واریانس میانگین هر فامیل به عنوان وزنه استفاده شد (Kearsey and Pooni, 1996).به منظور برآورد اثر ژنتیکی مدل زیر استفاده شد:

$$Y= m+a_1d+a_2h+a_3i+a_4j+a_5l$$

اجزای مدل عبارتنداز: Y: میانگین یک نسل، m: میانگین والدین یا شیب خط، d: مجموع اثرافزایشی، h مجموع اثر غالبیت، i، j و l به ترتیب اثر اپیستازی بین ژنی افزایشی×افزایشی، افزایشی×غالبیت، غالبیت×غالبیت و a_1 تا a_5 نیز ضرایب مربوط به این اثرها است که در جدول ۱ آورده شده است (Kearsey and Pooni, 1996).

جدول ۱- ضرایب اثر ژنی در تجزیه میانگین نسل‌ها

Table 1. Coefficients of gene effects in generation mean analysis

Generation	Coeficients				
	a_1	a_2	a_3	a_4	a_5
P1	1	0	1	0	0
P2	-1	0	1	0	0
F1	0	1	0	0	1
F2	0	1/2	0	0	1/4
BC1	1/2	1/2	1/4	1/4	1/4
BC2	-1/2	1/2	1/4	-1/4	1/4
F3	0	1/4	0	0	1/16
BS1	1/2	1/4	1/4	1/8	1/16
BS2	-1/2	1/4	1/4	-1/8	1/16

مدل سه پارامتری یعنی مدل افزایشی- غالبیت بدون اپی‌ستازی(مدل ۱) بر داده‌ها برازش داده شد. مناسب بودن مدل با آزمون نیکویی برازش با کای اسکور و معنی‌داری پارامترها نیز با آزمون t تعیین شد.

برای تعیین کفایت مدل افزایشی- غالبیت از آزمون‌های مقیاس بر اساس فرمول‌های زیر استفاده شد:

$$A = 2\overline{BC1} - \overline{P1} - \overline{F1}$$

$$B = 2\overline{BC2} - \overline{P2} - \overline{F1}$$

$$C = 4\overline{F2} - 2\overline{F1} - \overline{P1} - \overline{P2}$$

$$D = 4\overline{F3} - 2\overline{F2} - \overline{P1} - \overline{P2}$$

$$S^2A = 4S^2BC1 + S^2P1 + S^2F1$$

$$S^2B = 4S^2BC2 + S^2P2 + S^2F1$$

$$S^2C = 16S^2F2 + 4S^2F1 + S^2P1 + S^2P2$$

$$S^2D = 16S^2F3 + 4S^2F2 + S^2P1 + S^2P2$$

در مدل‌های فوق S^2 واریانس آزمون‌های مقیاس است. معنی‌داری این مقیاس‌ها با آزمون t بررسی شد. معنی‌دار نشدن آزمون‌های مقیاس نشان می‌دهد که مدل افزایشی- غالبیت برای مقاومت کفایت می‌کند. در غیر این صورت وجود اثر متقابل غیرآللی باعث معنی‌دار شدن آزمون‌های مقیاس می‌شود. در صورت وجود اثر غیر آللی از مدل ۶ پارامتری استفاده شد. میانگین نسل‌ها با توجه به جدول ضرایب برای تعیین مدل‌ها به صورت زیر است:

P1 = m + a+ aa

P2 = m - a + aa

F1 = m + d + dd

F2 = m + d/2 +dd/4

BC1 = m + a/2 + d/2 + aa/4 + ad/4 + dd/4

BC2 = m - a/2 + d/2 + aa/4 – ad/4 + dd/4

F3 = m + d/4 + dd/16

BS1 = m + a/2 + d/4 + aa/4 + ad/8 + dd/16

BS2 = m - a/2 + d/4 + aa/4 + ad/8 + dd/16

بر اساس مدل پیشنهادی کیرسی و پونی (۱۹۹۶) اجزای تنوع ژنتیکی و محیطی از طریق فرمول‌های زیر برای داده‌های مرکب دو آزمایش گلخانه‌ای و هم‌چنین ترکیبی هر سه آزمایش با مایه‌زنی در مورد صفات علائم نهایی (Final symptom) و AUDPC محاسبه شد. درجه غالبیت از نسبت اثر غالبیت به اثر افزایشی [h]/[d] به دست آمد. برای مشاهده انحرافات غالبیت در مکان‌های ژنی متفاوت، میانگین نسبت غالبیت یعنی $(4V_D/2V_A)^{1/2}$ نیز برآورد شد. وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی نیز به کمک روابط زیر برآورد شد (Kearsey and Pooni, 1996):

$$V_A = 2S^2F_2 - S^2BC_1 - S^2BC_2$$

$$V_D = S^2BC_1 + S^2BC_2 - S^2F_2 - V_E$$

$$V_{AD} = 0.5(S^2BC_2 - S^2BC_1)$$

$$V_E = 0.25S^2P_1 + 0.25S^2P_2 + 0.5S^2F_1$$

$$h^2_b = (V_A+V_D)/(V_A+V_D+V_E)$$

$$h^2_n = V_A/(V_A+V_D+V_E)$$

در معادلات فوق V_A، V_D، V_{AD}، V_E، h^2_b و h^2_n به ترتیب بیانگر واریانس افزایشی، واریانس غالبیت، واریانس اثر متقابل افزایشی× غالبیت، واریانس محیطی، وراثت پذیری عمومی و وراثت پذیری خصوصی

است.همبستگی بین صفات درآزمایش مزرعه‌ای تعیین شد. در تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای SAS و Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

میانگین و تجزیه واریانس صفات

نتایج نشان داد که در ژنوتیپ حساس، حدود هفت روز بعد از مایه‌زنی با زنجرک علائم به صورت نقطه یا لکه‌های سبز- زرد (کلروتیک)کوچک روی برگ‌ها ظاهر شد. بعد از حدود دو هفته این علائم به نوارهای کلروتیک تبدیل و با گذشت زمان سطح بیشتری از برگ با نوارهای کلروتیک پوشیده شد. در رقم حساس به تدریج مقدارنوارها و لکه‌های کلروتیک روی برگ تا ۹۰ و حتی ۱۰۰ درصد افزایش یافت در بوته‌های با حساسیت کمتر،زمان رسیدن به علائم، طولانی‌تر بود. در لاین‌ها یا بوته‌های مقاوم، علائمی ظاهر نشد و یا علائم خفیفی با درصد موزائیک ۵ تا ۱۰ درصد مشاهده شد. در زمان آخرین یادداشت‌برداری در مزرعه و گلخانه، بوته‌ی آلوده از بوته‌ی سالم کاملاً قابل تشخیص بود و در برگ‌های بوته‌های آلوده درصد نوارهای کلروتیک یادداشت شد.

تجزیه واریانس وزنی صفات مورد بررسی نشان داد که بین نسل‌های مختلف هم در تجزیه ساده هر محیط (آزمایش) و هم در تجزیه مرکب سه محیط (سه آزمایش) اختلاف معنی‌دار وجود داشت که امکان تجزیه و تحلیل ژنتیکی صفت مقاومت و صفات وابسته به آن را فراهم کرد (جدول ۲). میانگین، خطای استاندارد و واریانس هر یک از صفات اندازه‌گیری شده به همراه تعداد بوته‌های ارزیابی شده در نسل‌های مختلف نیز در جدول ۲آورده شده است. میانگین صفات اندازه گیری شده در نسل‌ها برای واکنش نسبت به بیماری در هر آزمایش نشان داد که مقدار این صفات در والد مقاوم کمترین و در والد حساس بیشترین میزان بود،بنابراین با وجودی که مقاوم و حساس بودن دو لاین K1263/1 و MO17 در آزمایش‌های سال‌های قبل ثابت شده بود مجدداً تایید شد که لاین K1263/1 یک لاین کاملاً مقاوم و MO17 یک لاین کاملا حساس به ویروس موزائیک ایرانی ذرت است. شدت آلودگی در بوته‌های لاین حساس بالا بود. بوته‌های آلوده از نظر ارتفاع نیز کوتاه شده،دارای بلال بد شکل و غالباً عقیم بودند. میانگین شدت علائم و درصد آلودگی در گلخانه بیشتر از مزرعه بود. میانگین شدت علانم در دو سال گلخانه‌ای در لاین حساس حدود ۹۱٪ و در مزرعه حدود ۵۸٪ بود.میانگین درصد آلودگی در لاین حساس در دو سال در گلخانه ۱۰۰ درصد و در مزرعه ۸۴ درصد بود (جدول۲). میزان بالای نرخ آلودگی در لاین حساس (۱۰۰٪ در گلخانه)، شدت آلودگی بیش از ۸۰ درصد و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نزدیک به مقدار بیشینه در شرایط گلخانه و جذب نور بالا در الیزا در لاین حساس همگی

جدول ۲- میانگین، خطای استاندارد و واریانس صفات اندازه‌گیری شده در نسل‌های مختلف ذرت

Table 2. Mean, standard error and variances of traits in different maize generations

آزمایش Experiment	نسل Generation	تعداد بوته Number of plants	درصد آلودگی Disease incidence	علائم نهایی(درصد) Final symptom (%) میانگین Mean	واریانس Variance	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC میانگین Mean	واریانس Variance	جذب نور در الیزا ELISA OD میانگین Mean	واریانس Variance
گلخانه (۱۳۹۲) Greenhouse (2013)	P1	18	100	84.72±1.69 a	51.39	2131.11±64.8 a	75717.81	0.581±0.02 a	0.0075
	P2	18	16.7	0.83±0.45 d	3.68	5.83±3.1 d	180.15	-0.036±0.005 d	0.0006
	F1	28	50.0	8.21±1.87 d	98.54	155.63±39.7 d	44266.49	0.057±0.036 d	0.0249
	F2	176	56.8	26.28±2.41 c	1027.79	588.47±55.9 c	550560.68	0.134±0.016 c	0.0475
	BC1	18	77.7	47.28±8.61 b	1335.86	1031.33±198.0 b	705725.38	0.342±0.066 b	0.0801
	BC2	18	50.0	7.50±2.22 d	88.97	172.08±51.0 d	46847.24	0.066±0.040 d	0.0301
گلخانه (۱۳۹۳) Greenhouse (2014)	P1	26	100	95.15±0.89 a	20.86	1883.94±33.8 a	29808.23	0.657±0.008 a	0.0017
	P2	26	15.4	0.96±0.48 d	6.04	6.73±3.3 d	295.88	0.005±0.011 d	0.0037
	F1	46	32.6	8.48±2.06 d	195.41	195.16±49.1 d	111215.95	0.038±0.016 d	0.0120
	F2	132	47.0	30.17±3.19 c	1344.37	589.27±69.8 c	643529.02	0.243±0.025 c	0.0835
	BC1	38	68.4	51.53±6.51 b	1613.39	1078.55±145.6 b	806541.01	0.380±0.051 b	0.1016
	BC2	30	23.3	5.17±2.12 d	135.32	79.92±35.0 d	36933.40	0.032±0.020 d	0.0126
مزرعه ۱۳۹۲ Field (2013)	P1	25	84.0	57.80±7.21 a	1300.17	2565.00±353.0 a	3116145.83		
	P2	22	22.7	3.18±1.63 d	58.44	129.55±65.3 d	93906.93		
	F1	28	85.0	10.36±1.31 cd	48.02	560.36±71.3 cd	142531.35		
	F2	250	40.4	23.01±1.89 c	989.05	994.16±87.9b c	1933473.59		
	BC1	21	61.9	41.67±8.31 b	1450.83	1569.05±334.0 b	2343994.05		
	BC2	25	13.6	1.80±1.11 d	31.00	97.00±59.7 d	89391.67		
گلخانه (۹۳-۱۳۹۲) Greenhouse (2013-2014)	P1	44	100	90.89±1.16 a	59.36	1985.06±37.6 a	62376.97	0.627±0.011 a	0.0053
	P2	44	15.9	0.91±0.33 e	4.97	6.36±2.3 f	243.45	-0.011±0.008 d	0.0028
	F1	74	39.2	8.38±1.45 e	156.92	180.20±33.9 ef	85303.04	0.044±0.015 d	0.0155
	F2	308	52.6	27.94±1.94 cd	1163.24	588.81±43.7 cde	588438.01	0.180±0.014 c	0.0656
	F3	622	47.6	29.27±1.41 cd	1237.46	639.99±31.9 bcd	635018.28	0.368±0.040 b	0.0934
	BC1	56	71.4	50.16±5.17 b	1502.28	1063.38±116.5 b	761210.59	0.045±0.019 d	0.0189
	BC2	48	33.3	6.04±1.56 e	116.98	114.48±29.4 f	41766.74	0.627±0.011 a	0.0053
	BS1	50	58.0	43.58±5.51 bc	1522.78	980.70±129.2 bc	835787.00	-0.011±0.008 d	0.0028
	BS2	128	32.8	15.23±2.32 de	691.68	314.43±51.5d ef	340318.27	0.044±0.015 d	0.0155
ترکیب آزمایش‌ها (گلخانه و مزرعه) Combined experiments (Greenhouse and field)	P1	69	94.2	78.90±3.30 a	753.06	2195.18±132.8 a	1218111.14		
	P2	66	18.2	1.67±0.59 f	23.33	47.42±22.6 d	33924.03		
	F1	102	52.0	8.92±1.11 ef	127.04	284.56±35.5 cd	128823.32		
	F2	558	47.1	25.73±1.39 cde	1089.32	770.42±46.9 bc	1229368.96		
	F3	622	47.6	29.27±1.41 bcd	1237.46	639.99±31.9 bcd	635018.28		
	BC1	77	68.8	47.84±4.38 b	1483.48	1201.29±125.8 b	1219102.28		
	BC2	73	26.0	4.59±1.11 f	90.80	108.49±27.9 cd	57131.38		
	BS1	50	58.0	43.58±5.51 bc	1522.78	980.70±129.2 b	835787.00		
	BS2	128	32.8	15.23±2.32 def	691.68	314.43±51.5 cd	340318.27		

Means with different letters in each column are significantly different.

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌دار دارند.

حاکی از کارآیی بالای انتقال ویروس توسط زنجرک بوده است. اکثر بوته‌های لاین مقاوم والدی P2 (K1263/1) بدون علائم بودند و تنها تعداد کمی از بوته‌های لاین مقاوم شدت آلودگی بین ۵ تا ۱۰ درصد نشان دادند (حدود ۱۸٪).

در هر سه آزمایش میانگین نتاج F1 از میانگین دو والد انحراف معنی‌داری داشت اما به میانگین والد مقاوم نزدیک‌تر بود و با آن اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۲). این نتیجه حاکی از وجود غالبیت نسبی یا غالبیت کامل در بروز صفات است. میانگین صفات برای نتاج F2 و BC1 بیشتر از میانگین نتاج F1 بود که احتمالاً ناشی از تفرق صفت در این نتاج و بروز نتاج حساس در این نسل‌ها است (جدول ۲). میانگین صفات اندازه‌گیری شده در نتاج نسل BC2 کمتر از میانگین‌ها در نتاج F2 و در حد والد مقاوم و نسل F1 بود و این سه نسل با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۲). کارآیی انتقال ویروس توسط ناقل در شرایط گلخانه مناسب‌تر از مزرعه بود طوریکه مشکل فرار بوته‌ها از آلودگی وجود نداشت. در مزرعه میزان آلودگی در لاین حساس والدینی کمتر از گلخانه بود (۸۴٪ در مزرعه در مقابل ۱۰۰٪ در گلخانه) و تعداد کمی از بوته‌های لاین حساس در مزرعه آلودگی صفر نشان دادند (جدول ۲).به نظر می‌رسد فعالیت ناقل ویروس به دلیل انتقال زنجرک‌های آلوده از گلخانه به مزرعه تحت تاثیر تغییردمای محیط قرار گرفته باشد. توانایی انتقال در گلخانه ۱۰۰٪ بوده است (جدول ۲).

نتایج آزمون‌های مقیاس در جدول ۳ حاکی از معنی‌دار نبودن آزمون‌های مقیاس A، B و C بود.

جدول ۳- آزمون‌های مقیاس به منظور بررسی کفایت مدل افزایشی- غالبیت

Table 3. Scaling tests for analysis of the adequacy of additive-dominance model

آزمون مقیاس Scaling test	علائم نهایی Final symptom	AUDPC	جذب نور ELISA OD
A	7.868^{ns}	-77.160^{ns}	0.065^{ns}
B	-1.410^{ns}	-115.000^{ns}	0.057^{ns}
C	4.524^{ns}	269.960^{ns}	0.019^{ns}
D	-14.970^{ns}	-1223.480**	-
S^2A	89.223	82246.747	0.007
S^2B	6.574	4907.461	0.002
S^2C	47.484	58470.403	0.004
S^2D	50.908	43315.341	-

** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و غیرمعنی‌دار، S^2: واریانس مقیاس.

** and ns : Significant at 1% probability level and not significant, respectively, S^2 : variance of scales

بنابراین مدل افزایشی- غالبیت برای صفات مورد مطالعه کفایت می‌کند

(Kearsey and Pooni, 1996؛ Mather and Jinks, 1982). با این وجود معنی‌دار شدن آزمون مقیاس D برای صفت AUDPC نشان داد که بررسی مدل‌های واجد اثر متقابل بین ژنی نیز ضروری است. پارامترهای ژنتیکی شامل m (میانگین)، d (اثر افزایشی)و h (اثر غالبیت) برآورد شد (جدول ۴). در صورتی که پارامتر محاسبه شده معنی‌دار باشد و کای اسکور غیرمعنی‌دار باشد نشان‌دهنده برازش مناسب مدل است. از آن‌جا که تعداد بوته‌ها در هر نسل متفاوت بود محاسبه پارامترهای مدل به صورت غیر وزنی و وزنی محاسبه شد. پارامترهای ژنتیکی برآورد شده صفات مختلف در مدل‌های وزنی و غیر وزنی تفاوت معنی‌داری نداشتند. این نتایج مشابه با نتایج سایر مطالعات است (Carson and Hooker, 1981؛ Miles *et al*., 1980) و نشان می‌دهد که تجزیه میانگین نسل‌ها با روش غیر وزنی نیز کاملاً منطقی است. پارامترهای ژنتیکی برای هر سه صفت (علائم نهایی، مقدار AUDPC و جذب نور الیزا) در ترکیب دو آزمایش گلخانه‌ای و برای دو صفت علائم نهایی و مقدار AUDPC درتجزیه مرکب هر سه آزمایش با مایه‌زنی مصنوعی محاسبه و بررسی شد.

به طورکلی نتایج آزمون‌های مقیاس انفرادی به خوبی با نتایج آزمون مقیاس مشترک هماهنگی داشت و بیانگر نکوئی مدل افزایشی- غالبیت در هر یک از آزمایش‌هابود. میزان m،[d] و [h] در مدل سه پارامتری در هر کدام از صفات معنی‌دار بود و کای‌اسکور مدل معنی‌دار نبود که نشان‌دهنده مناسب بودن مدل و عدم وجود اثر اپیستازی است، بنابراین معنی‌دار شدن اجزاء افزایشی و غالبیت بیانگر اهمیت اثر افزایشی و غیر افزایشی ژن‌ها در کنترل ژنتیکی و توارث این صفات است. علامت مثبت یا منفی اثر افزایشی ژن‌ها (d) بستگی به انتخاب هر یک از والدین به عنوان P_1 و P_2دارد (Cukadar-Olmedo and Miller, 1997؛ Edwards *et al*., 1975). علامت اثر غالبیت ژن‌ها (h) تابعی از میانگین نسل F_1و میانگین والدین است و نشان می‌دهد که کدام والد در اثر غالبیت ژن‌ها نقش بیشتری دارد به طوری که علامت منفی برای پارامتر h نشان‌دهنده غالبیت در جهت کاهش صفت مربوطه است (Mather and Jinks, 1982). آثار افزایشی و غالبیت در همه صفات از نظر مقدار تقریباً مشابه ولی علامت متفاوتی داشتند. علامت مثبت اثر افزایشی به دلیل انتخاب لاین MO17 به عنوان والد P_1 و حساس به بیماری بود. علامت منفی اثر غالبیت نشان می‌دهد که غالبیت در جهت کاهش هر سه صفت مرتبط با بیماری و به عبارتی ایجاد مقاومت است. از آن‌جا که میانگین صفات در F_1 از میانگین صفات در دو والد کمتر بود، غالبیت منفی در جهت کاهش صفت یا کاهش شدت بیماری معقول به نظر می‌رسد. علامت منفی غالبیت نشان می‌دهد که الل‌های کاهنده صفات در فنوتیپ بارز و

جدول ۴- برآورد میانگین و اجزای ژنتیکی و خطای استاندارد در آزمون مدل سه و شش پارامتری برای صفات مختلف مرتبط با مقاومت به ویروس موزائیک ایرانی ذرت

Table 4. Estimation of mean and genetic components and standard error in three and six parameters models for different traits related to *Maize Iranian mosaic virus* resistance

		Model	m	d	h	i	j	l	χ^2	$^{[h]}/_{[d]}$
			Greenhous experiments							
علائم نهایی Final symptoms	وزنی	I	44.30±1.87**	43.60±1.96**	-36.29±4.28**	-	-	-	0.999	-0.83
	Wighted	II	32.75±8.92*	44.60±2.05**	-7.33±31.08 ns	12.84±9.02 ns	-9.08±16.08 ns	-16.86±24.17 ns	0.993	-0.16
	غیروزنی	I	42.51±3.22**	42.07±3.50**	-33.90±6.94**	-	-	-	0.999	-0.81
	Unwighted	II	28.81±12.26 ns	43.45±4.55**	2.07±39.81 ns	16.35±12.76 ns	-11.00±19.92 ns	-22.00±31.19 ns	0.983	-0.05
سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC	وزنی	I	953.0±38.03**	948.1±38.76**	-784.3±82.88**	-	-	-	0.992	-0.83
	Wighted	II	749.1±165.7*	979.9±41.84**	-314.6±575.1 ns	237.6±167.5 ns	-195.7±296.9 ns	-251.1±448.6 ns	0.772	-0.32
	غیروزنی	I	923.7±62.14**	928.7±67.59**	-750.9±133.9**	-	-	-	0.864	-0.81
	Unwighted	II	673.0±228.9 ns	960.5±84.90**	-132.2±743.4 ns	308.9±238.3 ns	-253.9±371.9 ns	-351.3±582.5 ns	0.475	-0.14
جذب نور ELISA OD	وزنی	I	0.311±0.008**	0.319±0.009**	-0.256±0.017**	-	-	-	0.999	-0.81
	Wighted	II	0.207±0.011*	0.319±0.001**	0.056±0.027 ns	0.101±0.011 ns	-	-0.220±0.017*	0.993	0.18
	غیروزنی	I	0.316±0.012**	0.320±0.012**	-0.257±0.023**	-	-	-	0.999	-0.80
	Unwighted	II	0.205±0.013*	0.320±0.002**	0.064±0.030 ns	0.103±0.013 ns	-	-0.225±0.019 ns	0.991	0.20
			Field and greenhouse experiments							
علائم نهایی Final symptoms	وزنی	I	39.31±1.47**	37.801±1.61**	-30.14±2.67**	-	-	-	0.998	-0.80
	Wighted	II	33.82±6.34*	37.84±2.42**	-12.51±21.44 ns	5.85±6.52 ns	5.18±11.59 ns	-12.34±16.42 ns	0.996	-0.33
	غیروزنی	I	38.96±2.05**	37.67±2.23**	-29.22±4.42**	-	-	-	0.997	-0.78
	Unwighted	II	30.92±8.83*	37.41±3.27**	-5.65±28.70 ns	8.99±9.20 ns	2.08±14.36 ns	-16.11±22.49 ns	0.989	-0.15
سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC	وزنی	I	620.0±53.6**	960.7±97.3**	-693.5±158.8**	-	-	-	0.161	-0.72
	Wighted	II	598.5±89.4**	1055.2±254.4*	-402.7±312.6 ns	369.1±310.3 ns	76.6±599.0 ns	-413.2±821.7 ns	0.971	-0.38
	غیروزنی	I	626.1±68.7**	1009.1±107.4**	-725.4±212.9*	-	-	-	0.623	-0.72
	Unwighted	II	572.5±99.8**	933.9±262.9*	-314.9±408.8 ns	468.3±400.3 ns	-200.4±624.8 ns	-436.6±978.4 ns	0.631	-0.34

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار.

*, ** and ns: Significant at 5% and significant at 1% probability levels and not significant, respectively

m: میانگین؛ d: اثر افزایشی؛ h: اثر غالبیت؛ i: اثر افزایشی × افزایشی؛ j: اثر افزایشی × غالبیت؛ l: اثر غالبیت × غالبیت؛ χ^2: مقدار کای اسکور.

I: مدل سه پارامتری؛ II: مدل شش پارامتری.

m: Mean; d: additive effect; h: dominant effect; i: additive × additive effect; j: additive × dominant effect; l: dominant × dominant effect; χ^2 : Chi square value.

I: Three parameters model; II: Six parameter model.

ال‌های افزاینده در فنوتیپ نهفته حضور دارند. به این ترتیب استنباط می‌شود که ال‌های مقاومت به بیماری در والد مقاوم K1263/1 از نوع غالب باشند. داده‌های حاصل از الیزا نیز مدل ۳ پارامتری را تایید کرد. غیر معنی‌دار بودن کای اسکور مدل و معنی‌دار بودن آثار افزایشی و غالبیت مجاسبه شده از داده‌های جذب نور،نتایج حاصل از ارزیابی‌های فنوتیپی نسل‌ها را تایید کرد.

ژن‌های مقاومت برای تعدادی از ویروس‌های ذرت شناسایی شده‌اند که تعدادی از آن‌ها با اثر افزایشی و برخی با اثر غالبیت و فوق غالبیت یا غالبیت جزیی هستند (Redinbaugh *et al*., 2004). مطالعه زامبرانو و همکاران نشان داد که بسته به نوع ویروس، مقاومت می‌تواند تحت کنترل اثر ژنی بارز، نهفته و یا افزایشی باشد. در مطالعه آن‌ها یک تا سه ژن مسئول مقاومت به ویروس‌های مختلف تشخیص داده شد (Zambrano *et al*., 2014). هم‌چنین تجزیه میانگین نسل‌ها در مقاومت به بیماری پوسیدگی آسپرژیلوسی بلال (Aspergillus ear rot) نیز نشان داد که اثر ژنی افزایشی و غالبیت دارای اهمیت هستند (Campbell and White, 1995).

نسبت غالبیت (h/d) برای صفات در مدل سه پارامتری و شش پارامتری در جدول ۴ آمده است. مثبت بودن درجه غالبیت (0<h/d<+1) بدین مفهوم است که غالبیت جزیی برای صفت مورد بررسی به سمت والدی تمایل دارد که دارای میانگین بالاتری است. منفی بودن این نسبت (-1<h/d<0) نشان می‌دهدکه غالبیت جزیی به طرف والدی است که دارای میانگین کوچک‌تری برای صفت مورد بررسی است (Kearsey and Pooni, 1996). در این مطالعه نسبت غالبیت برای همه صفات در تجزیه‌های وزنی و غیر وزنی مشابه بود. این نسبت برای مدل سه پارامتری که برازش مناسب‌تری را نشان داد برای همه صفات مشابه و یا بسیار نزدیک (-0.8)بود که حاکی از غالبیت جزیی برای والد مقاوم P_2 (K1263/1) است. لذا آلل‌های والد مقاوم بر آلل‌های والد حساس غالبیت جزیی دارد.

در مدل شش پارامتری اثر بین اللی و اثر غالبیت معنی‌دار نبود. در این مدل تنها اثر افزایشی در همه صفات در دو نوع تجزیه (دو آزمایش و سه آزمایش) معنی‌دار بود. این موضوع بیانگر اهمیت زیاد اثر افزایشی در ژن‌های کنترل کننده مقاومت به بیماری در لاین مقاوم و کارآیی بالای انتخاب در نسل‌های اولیه به منظور به‌نژادی مقاومت به این بیماری خواهد بود (Mather and Jinks, 1982). علامت مثبت یا منفی اثر متقابل افزایشی × افزایشی [i] به ترتیب نشانی از تجمع (Association) یا پراکندگی (Dispersion) آلل‌ها در والدین است. بنابراین علی‌رغم معنی‌دار نبودن اثر متقابل در مدل ۶ پارامتری، علامت مثبت [i] نشان از تجمع آلل‌ها در والدین برای صفات مرتبط با بیماری

است. علامت اثر ژنی غالبیت، جهت غالبیت و علامت اثر متقابل غالبیت × غالبیت [l] یک جهته یا دو جهته بودن غالبیت را نشان می‌دهند. علامت منفی اثرغالبیت ژنی نشان می‌دهد که آلل‌های کاهنده در فنوتیپ بارز و یا به عبارت دیگر الل‌های افزاینده در فنوتیپ نهفته وجود دارند. هم چنین علامت منفی [l] نشانی از غالبیت دو جهته دارد. در این مطالعه مشاهده شد که جهت غالبیت برای صفات بررسی شده از نوع غالبیت یک جهته و آلل‌های کاهنده در فنوتیپ بارز حضور داشتند. علامت مشابه پارامترهای [h] و [l] حاکی از اپیستازی تکمیلی (Complementary) است و زمانی که علائم این دو پارامتر متفاوت باشد نشانی از اپیستازی مضاعف (Duplicate) است (Mather and Jinks, 1982). در این مطالعه هر چند اثر متقابل محاسبه شده ناچیز و غیرمعنی‌دار بود ولی علائم آن‌ها نشان داد که در مورد ژن‌های کنترل کننده صفات مرتبط با بیماری اگر اثر متقابلی وجود داشته باشد از نوع تکمیلی بوده و اپیستازی تکمیلی بین آلل‌های کاهنده غالب وجود دارد (Kearsey and Pooni, 1996). مقاومت به ویروس موزائیک نیشکر نیز در ذرت تحت کنترل دو ژن است که به صورت بارز مکمل عمل می‌کنند (Wu *et al*., 2007). این نوع اثر ژنی در مقاومت به MMV در لاین Oh1VI نیز گزارش شده است (Zambrano *et al*., 2014).

واریانس‌های ژنتیکی و وراثت‌پذیری مقاومت به بیماری

اجزای واریانس ژنتیکی نسل‌های مختلف در آزمایش‌های گلخانه‌ای و هم‌چنین ترکیب هرسه آزمایش در جدول ۵ نشان داده شده است. واریانس افزایشی شدت آلودگی در مرحله نهایی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در هر دو نوع تجزیه، از واریانس غالبیت بزرگ‌تر بود. واریانس محیطی (میانگین واریانس نسل‌های تفرق ناپذیر P_1، P_2 و F_1) در آزمایش مزرعه‌ای بیشتر از واریانس محیطی در آزمایش‌های گلخانه ای بود.علت این تفاوت شرایط یکنواخت‌تر گلخانه در ایجاد آلودگی مصنوعی در مقایسه با مزرعه بود.

در مدل افزایشی- غالبیت متوسط واریانس‌های BC_1 و BC_2 کوچک‌تر از واریانس F_2 بود (جدول ۲). علامت کوواریانس افزایشی و غالبیت (V_{AD}) به جهت غالبیت بستگی دارد. وقتی آلل‌های کاهنده فنوتیپ غالب باشند، V_{AD} منفی و در غیر اینصورت مثبت خواهد بود (Kearsey and Pooni, 1996). هم چنین تلاقی برگشتی با والدی که دارای بیشترین تعداد آلل‌های غالب است، واریانس فنوتیپی کوچک‌تری را ایجاد می‌نماید. در این آزمایش V_{AD} صفات مختلف مرتبط با بیماری منفی و حاکی از این بود که آلل‌های کاهش‌دهنده فنوتیپ یا میزان شدت آلودگی غالب هستند و تلاقی برگشتی با والد P_2 دارای واریانس فنوتیپی

کمتری برای همه صفات بود (جدول ۲). این موضوع بیانگر این است که غالبیت در جهت ارزش پایین‌تر صفت یا مقاومت بیشتر به بیماری بوده است و با علامت منفی اثر ژنتیکی غالبیت (h) مطابقت دارد.

مقدار [h]/[d] برای تخمین درجه غالبیت از اعتبار کمتری در مقایسه با تخمین درجه غالبیت با استفاده از برآورد واریانس‌ها برخوردار است، زیرا این نسبت به دلیل غالبیت چند جهته ژن‌های کنترل‌کننده صفت می‌تواند کوچک برآورد شود و یا به علت نحوه توزیع ژن‌های افزاینده و کاهنده صفت بین والدین و حذف اثر یک‌دیگر بسیار بزرگ برآورد شود (Mather and Jinks, 1982). بنابراین از پارامتر $\sqrt{H}/D$ (Mather and Jinks, 1982) و $\sqrt{(4V_D/2V_A)}$ (Kearsey and Pooni, 1996) نیز جهت برآورد متوسط غالبیت استفاده شود. مقدار این پارامتر برای صفات علائم نهایی شدت بیماری و مقدار AUDPC در گلخانه به یک بسیار نزدیک بود که نشان‌دهنده غالبیت کامل ژن بود. در تجزیه مرکب داده‌های گلخانه با مزرعه درجه غالبیت بین صفر و یک متغیر بود که نشان‌دهنده غالبیت نسبی برای مقاومت به بیماری بود. در هر صورت این نتایج نشان می‌دهد که علاوه بر واریانس افزایشی، واریانس غالبیت نیز در کنترل مقاومت به بیماری MIMVدارای اهمیت می‌باشد.

قابلیت وراثت‌پذیری عمومی برای صفات شدت علائم و میزان AUDPCدر شرایط آلودگی مصنوعی در گلخانه بالا و به ترتیب برابر با ۹۲ و ۹۰ درصد بود. در ترکیب داده‌های آزمایش‌های گلخانه و مزرعه میزان توارث پذیری عمومی صفات پایین‌تر بود که علت آن بیشتر بودن واریانس محیطی در مزرعه است. وراثت‌پذیری خصوصی صفات در تجزیه داده‌های گلخانه و ترکیب داده‌های گلخانه و مزرعه تقریباً مشابه و در دامنه ۵۵ تا ۶۴ درصد برآورد شد (جدول ۵). برآوردهای توارث‌پذیری از این جهت مهم است که اطلاعات لازم برای انتقال صفات از والدین به نتاج را فراهم کرده و بنابراین ارزیابی آثار ژنتیکی و محیطی در تنوع فنوتیپی را تسهیل و به گزینش کمک می‌کند. برآورد توارث‌پذیری صفات بررسی شده در این مطالعه به ویژه در شرایط گلخانه نشان می‌دهد که محیط بر ایجاد علائم بیماری در ذرت و یا به طور کلی بر مقاومت و یا حساسیت بوته‌ها اثر کمتری نسبت به ژنوتیپ دارد. بنابراین صفت مقاومت قابل انتقال به نسل‌های بعدی خواهد بود و انتخاب در اصلاح مقاومت ژنتیکی به این ویروس موثر خواهد بود.

همبستگی بین صفات مرتبط با بیماری و ارتفاع بوته و بلال و تاریخ رسیدن به گلدهی نشان داد که دو صفت شدت علائم در آخرین یادداشت‌برداری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری همبستگی مثبت و معنی‌دار داشتند

جدول ۵- اجزای واریانس ژنتیکی، وراثت‌پذیری و درجه غالبیت برای صفات مختلف مرتبط با مقاومت به ویروس موزائیک ایرانی ذرت در شرایط گلخانه و مزرعه

Table 5. Variance components, heritability and dominance ratio for different traits related to *Maize Iranian mosaic virus* resistance in greenhouse and field conditions

			ترکیب آزمایش‌های گلخانه Combined greenhous experiments		ترکیب آزمایش‌های گلخانه و مزرعه Combined greenhouse and field experiments	
Variance and heritability	واریانس و وراثت‌پذیری	اجزای واریانس Variance components	علائم نهایی Final symptoms	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC	علائم نهایی Final symptoms	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC
Environment	محیطی	$V_E = 0.25S^2P_1+0.25S^2P_2+0.5S^2F_1$	94.54	58306.63	257.6	377420.5
Additive (A)	افزایشی	$V_A = 2S^2F_2-S^2BC_1-S^2BC_2$	707.22	373898.69	604.4	1182504.3
Dominance (D)	غالبیت	$V_D = S^2BC_1+S^2BC_2-S^2F_2-V_E$	361.48	156232.70	227.3	-330555.8
A × D	افزایشی × غالبیت	$V_{AD} = 0.5(S^2BC_2-S^2BC_1)$	-692.65	-359721.93	-696.3	-580985.5
Dominance ratio	درجه غالبیت	Dominance ratio = $\sqrt{(4V_D/2V_A)}$	1.01	0.91	0.87	0.75
General her.	وراثت‌پذیری عمومی	$h^2b = (V_A+V_D)/(V_A+V_D+V_E)$	0.92	0.90	0.76	0.80
Specific her.	وراثت‌پذیری خصوصی	$h^2n = V_A/(V_A+V_D+V_E)$	0.61	0.64	0.55	0.63

جدول ۶- همبستگی صفات در آزمایش مزرعه‌ای با آلودگی مصنوعی

Table 6. Correlation between traits in field trial with artificial infection

Field experiment	آزمایش مزرعه‌ای	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC	ارتفاع بوته Plant height	ارتفاع بلال Ear height	کاکل‌دهی Silking
Final symptoms	علائم نهایی	0.99	-0.66	-0.60	0.35
AUDPC	سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری		-0.67	-0.60	0.34
Plant height	ارتفاع بوته			0.85	-0.32
Ear height	ارتفاع بلال				-0.41

Correlation coefficients are significant at 0.0001 probability level.

ضرایب همبستگی در سطح احتمال ۰/۰۰۰۱ معنی‌دار هستند.

(r=0.99). بین این دو صفت و ارتفاع بوته و بلال همبستگی منفی و معنی‌دار وجود داشت که نشان می‌دهد افزایش شدت بیماری باعث کاهش ارتفاع بوته و بلال شده است (جدول ۶). کاهش ارتفاع بوته در اثر تعداد زیادی از بیماری‌های ویروسی گزارش شده است (Kuntze *et al*.. 1995؛ Ming *et al*., 1997؛ Redinbaugh *et al*., 2002, 2004). هرچند کاهش در ارتفاع بوته محسوس‌تر از ارتفاع بلال است اما به نظر می‌رسد تاثیر این ویروس بر ارتفاع بوته به نسبت برخی ویروس‌ها مثل ویروس کوتولگی زبر ذرت (*Maize dwrf mosaic virus*, MDMV) کمتر است. همبستگی بین دو صفت مرتبط با بیماری (Final symptoms و AUDPC) با تاریخ کاکل‌دهی نیز معنی‌دار بود. ضریب همبستگی مثبت (r= 0.35) نشان می‌دهد که با افزایش شدت بیماری، گلدهی بوته‌ها به تاخیر می‌افتد.

یکی از راه‌های موفقیت در برنامه اصلاحی و تعیین روش به‌نژادی آگاهی از نحوه توارث صفت در نسل‌های مختلف است، بنابراین تعیین آثار ژن و اجزاء ژنتیکی شرکت کننده در مقاومت ارقام یا لاین‌ها از عوامل اصلی برای موفقیت در برنامه‌های به‌نژادی است. برآورد بالای اثر غالبیت و بعضی از اشکال اپیستازی در تولید هیبرید مؤثر بوده در حالیکه برآورد بالای اثرافزایشی نشان می‌دهد که روش‌های مختلف انتخاب و گزینش در به‌نژادی آن صفت از کارآیی بالایی برخوردار خواهد بود. در این مطالعه با توجه به اینکه در کنترل مقاومت به ویروس موزائیک ایرانی ذرت اثر ژنتیکی افزایشی از اهمیت بیشتری در مقایسه با اثرغالبیت برخوردار بود و با توجه به سهم ناچیز اثر اپیستازی، تولید لاین‌های خالص دارای مقاومت و سپس تولید هیبریدهای مقاوم حاصل از آن‌ها می‌تواند در به‌نژادی صفت مقاومت به این بیماری موثر و مفید واقع شود. به علاوه برای افزایش کارآیی انتخاب بر اساس اجزای مقاومت، این اجزاء باید تا حد زیادی قابل توارث باشند و ارتباط معنی‌داری با مقاومت داشته باشند. در این مطالعه صفت شدت علائم بیماری در آخرین یادداشت‌برداری (۴۹ روز بعد از مایه‌زنی مصنوعی در گلخانه) با توجه به همبستگی بالا با صفات مرتبط با بیماری، تایید ارتباط آن با بیماری در نسل‌های مختلف از طریق آزمون الیزا و توارث پذیری بالادر شرایط گلخانه، بهترین صفت برای ارزیابی ذرت نسبت به بیماری ویروسی موزائیک ایرانی ذرت تشخیص داده شد.

سپاسگزاری

از مسئولین بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به خاطردر اختیار قرار دادن بذر نسل‌های والدینی این آزمایش سپاسگزاری می‌شود.

References

Ahmadi, A. A., Izadpanah, K., and Jafari, S. A. 1986. The effect of inoculation time on corn plant yield in Badjgah (Shiraz). Proceedings of the 8th Iranian Plant Protection Congress, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran (in Persian).

Ammar, E. D., Gomez-Luengo, R. G., and Gordon, D. T. 1987. Cytopathology and site of rhabdovirus assembly and accumulation for Iranian (Shiraz) *maize mosaic virus* infected maize. Phytopathology 77: 1732 (Abstract).

Ammar, E. D., Gomez-Luengo, R. G., Gordon, D. T., and Hogenhout, S. A. 2005. Characterization of *Maize Iranian mosaic virus* and comparison with Hawaiian and other isolates of *Maize mosaic virus (Rhabdoviridae)*. Jounal of Phytopathology 153: 129-136.

Campbell, C. L., and Madden, L. V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley and Sons, New York, USA.

Campbell, K. W., and White, D. G. 1995. Inheritance of resistance to aspergillus ear rot and aflatoxin in corn genotypes. Phytopathology 85: 886-896.

Carson, M. L., and Hooker, A. L. 1981. Inheritance of resistance to stalk rot of corn caused by *Colletotrichum graminicola*. Phytopathology 71: 1190-1196.

Clark, M. F., and Bar-Joseph, M. 1984. Enzyme immunosorbent assays in plant virology. pp. 51-85. In: Maramorosch, K., and Koprowik, H. (eds.) Methods in Virology. Academic Press, New York, USA.

Converse, R. H., and Martin, R. R. 1990. ELISA methods for plant viruses. pp. 179-196. In: Hampton, R. O., Ball, E. M., and DeBoer, S. H., (eds.) Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens, A Laboratory Manual.APS Press, New York, USA.

Cukadar-Olmedo, B., and Miller. J. F. 1997. Inheritance of the stay green trait in sunflower. Crop Science 37: 150-153.

Dintinger, J., Boissot, N., Chiroleu, F., Hamon, P., and Reynaud, B. 2005. Evaluation of maize inbreds for *Maize stripe virus* and *Maize mosaic virus* resistance: disease progress in relation to time and the cumulative number of planthoppers. Phytopathology 95: 600–607.

DiRenzo, M. A., Bonamico, N. C., Diaz, D. D., Salerno, J. C., Ibanez, M. M., and Gesumaria, J. J. 2002. Inheritance of resistance to Mal de Rıo Cuarto (MRC) disease in *Zea mays* (L.). Journal of Agricultural Science 139: 47-53.

Dixit, G. P. 1998. Gene action for yield and its components in grass pea. Indian Journal of Genetics 58: 91-95.

Edwards, L. H., Ketata, H., and Smith, E. L. 1975. Gene action of heading date, plant height and other characters in two winter wheat crosses. Crop Science 16: 275-277.

Estakhr, A. 2004. *Maize rough dwarf virus* in Fars province. Zaitoon 16: 12-19 (in Persian).

Estakhr, A., and Choukan, R. 2011. Effect of planting date on grain yield and its components and reaction to important maize viruses in Fars province in some exotic and Iranian maize hybrids. Seed and Plant Production Journal 27-2 (3): 313-333 (in Persian).

Estakhr, A., Heidari, B., Dadkhodaie, A., and Izadpanah, K. 2015. Evaluation of maize inbredlines for *Iranian maize mosaic virus* (IMMV) resistance. Annual Research and Review in Biology 8: 1-12.

Fry, W. E. 1977. Integrated control of potato late blight. Effects of polygenic resistance and techniques of timing fungicide applications. Phytopathology 68: 1650-1655.

Haynes, K. G., and Weingartner, D. P. 2004. The use of area under the disease progress curve to assess resistance to late blight in potato germplasm. American Journal of Potato Research 81: 137-141.

Izadpanah, K. 1989. Purification and serology of the *Iranian maize mosaic rhabdovirus*. Journal of Phytopathology 126: 43-50.

Izadpanah, K. 2004. *Maize Iranian mosaic*. pp. 653-655. In: Lapierre, H., and Signorat, P. A. (eds.) Viruses and Virus Diseases of Poaoceae (Grarminae). INRA Edition, Paris, France.

Izadpanah, K., Ahmadi, A. A., Parvin, S., and Jafari, S. A. 1983. Transmission, particle size and additional hosts of the *rhabdovirus* causing maize mosaic in Shiraz, Iran. Journal of Phytopathology 107: 283-288.

Izadpanah, K., Masoumi, M., and Kamran, R. 1993. Another hosts of *Maize mosaic rhabdovirus*. Proceedings of the 11th Iranian Plant Protection Congress, Rasht, Iran. Page 96 (in Persian).

Izadpanah, K., and Parvin, S. 1979. Occurrence of *Maize mosaic virus* in corn fields around Shiraz. Iranian Journal of Plant Pathology 15: 53-54 (in Persian).

Izadpenah, K., and Parvin, M. 1979. *Maize mosaic virus* in Shiraz fields. Iranian Journal of Plant Pathology 15: 78-82.

Jackson, A. O., Francki, R. I. B., and Zuidema, D. 1987. Biology, structure, and replication of plant rhabdoviruses. pp. 427-508. In: Wagner, R. R. (ed.), The Rhabdoviruses. Plenum, New York, USA.

Jalali, S., Namatollahi, M. R., and Sabzi, M. H. 2007. The study of *Maize rough dwarf* and *Maize Iranian mosaic viruses* in Isfahan I: Plant date and cultivars effects. Seed and Plant 23: 203-216 (in Persian).

Jeger, M. J., and Viljanen-Rollinson, S. L. H. 2001. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. Theoretical and Applied Genetics 102(1): 32-40.

Jinks, J. L., and Pooni, H. S. 1979. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. Heredity 36: 253-266.

Jones, M. W., Redinbaugh, M. G., Anderson, R. J., and Louie, R. 2004. Identification of quantitative trait loci controlling resistance to *Maize chlorotic dwarf virus*. Theoretical and Applied Genetics 110: 48-57.

Kearsey, M. J., and Pooni, H. S. 1996. The Genetical Analysis of Quantitative Traits,1st edition. Chapman and Hall, London, UK. 381 pp.

Kuntze, L., Fuchs, E., Grüntzig, M., Schulz, B., Henning, U., Hohmann, F., and Melchinger, A. E. 1995. Evaluation of maize inbred Iines for resistance to *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) and *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV). Agronomie 15(7-8): 463-467.

Lehmensiek, A., Esterhuizen, A. M., Van-Staden, D., Nelson, S. W., and Retief, A. E. 2001. Genetic mapping of gray leaf spot (*GLS*) resistance genes in maize. Theoretical and Applied Genetics 103: 797-803.

Louie, R., and Anderson, R. J. 1993. Evaluation of *Maize chlorotic dwarf virus* resistance in maize with multiple inoculations by *Graminella nigrifrons* (Homoptera, Cicadellidae). Journal of Economic Entomology 86: 1579-1583.

Lubberstedt, T., Xia, X.C., Xu, M. L., Kuntze, L., and Melchinger, A. E. 1999. Inheritance of resistance to SCMV and MDMV in European maize. pp. 241-250. In:

Scarascia- Mugnozza, G. T., Porcedu, E., and Pagnotta, M. A. (eds.) Genetics and Breeding for Crop Quality and Resistance. Proceedings of the XV EUCARPIA Congress, Niterbo, Italy.

Massah, A., Izadpanah, K., and Afshrifar, A. R. 2004a. Partial sequence of the L-Protein gene of *Iarnian maize mosaic rhabdovirus* by a new random- PCR method. Plant Protection Towards the 21st Century. Proceedings of the 15th International Plant Protection Congress, Beijing, China. Page 338 (Abstract).

Massah, A., Izadpanah, K., Afsharifar, A. R., and Winter, S. 2008. Analysis of nucleotide sequence of *Iranian maize mosaic virus* confirms its identity as a distinct *Nucleorhabdovirus*. Archives of Virology 153: 1041-1047.

Massah, A., Winter, S., Afsharifar, A., Ahoonmanesh, A., and Izadpanah, K. 2004b. Molecular characterization of the *Iranian maize mosaic nucleorhabdovirus*. "Proc. Viruskrankheiten der Pflanzen " am 29-30.03.2004 in Braunschweig Deutschland (Abstract).

Mather, K., and Jinks, J. L. 1982. Biometrical Genetics. 3rd edition. Chapman and Hall, London, UK. 396 pp.

McMullen, M. D., Jones, M. W., Simcox, K. D., and Louie, R. 1994. Three genes control resistance to *Maize streak mosaic virus* in the maize inbred Pa 405. Maize-Genetics Cooperation-Newsletter 68: 38.

Miles, J. W., Dudley, J. W., White, D. G., and Lambert, R. J. 1980. Improving corn population for grain yield and resistance to leaf blight and stalk rot. Crop Science 20(2): 247-251.

Ming, R., Brewbaker, J. L., Pratt, R. C., Musket, T. A., and McMullen, M. D. 1997. Molecular mapping of a major gene conferring resistance to *Maize mosaic virus*. Theoretical and Applied Genetics 95: 271-275.

Naidu, R. A., and Hughes, J. D. A. 2003. Methods for the detection of plant viral diseases in plant virology in sub-Saharan Africa. pp. 233-260. In: Hughes, I. D. A., and Odu, B. (eds.) Proceedings of Plant Virology, IITA, Ibadan, Nigeria.

Pitrat, M., and Lecoq, H. 1980. Inheritance of resistance to *Cucumber mosaic virus* transmission by *Aphis gossypii* in *Cucumis melo*. Phytopathology 70: 958-961.

Redinbaugh, M. G., Jones, M. W., and Gingery, R. E. 2004. The genetics of virus resistance in maize (*Zea mays* L.). Maydica 49: 183-190.

Redinbaugh, M. G., Seifers, D. L., Meulia, T., Abt, J. J., Anderson, R. J., Styer, W. E., Ackerman, J., Salomon, R., Houghton, W., Creamer, R., Gordon, D. T., and Hogenhout, S. A. 2002. *Maize fine streak virus*, a new leafhopper-transmitted rhabdovirus. Phytopathology 92: 1167-1174.

Salehi, M., Nejat, N., Estakhr, A., and Izadpanah, K. 2004. Effect of planting date and plant density on *Maize rough dwarf virus* control. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz University, Tabriz, Iran. Page 112 (in Persian).

Sibiya, J. 2009. Breeding investigations for resistance rto phaeosphaeria leaf spot (PLS) and other important foliar diseases and a study of yield stability in African maize germplasm. PhD Thesis of Plant Breeding, African Center for Crop Improvement (ACCI), South Africa. 249pp.

Simcox, K. D., McMullen, M. D., and Louie, R. 1995. Cosegregation of the *Maize dwarf mosaic virus* resistance gene, *Mdm1*, with nucleolus organizer region in maize. Theoretical and Applied Genetics 90: 341-346.

Simko, I., and Piepho, H. P. 2012. The area under the disease progress stairs: Calculation, advantage, and application. Phytopathology 102: 381-389.

Warner, J. N. 1952. A method for estimating heritability. Agronomy Journal 44(8): 427.

Wu, J. Y., Ding, J. Q., Du, Y. X., Xu, Y. B., and Zhang, X. C. 2007. Genetic analysis and molecular mapping of two dominant complementary genes determining resistance to *Sugarcane mosaic virus* in maize. Euphytica 156(3): 355-364.

Zambrano, J. L., Jones, M. W., Francis, D. M., Tomas, A., and Redinbaugh, M. G. 2014. Quantitative trait loci for resistance to *Maize rayado fino virus*. Molecular Breeding 34(3): 989-996.